

ESTAQUIA E ANATOMIA DE VASSOURÃO-BRANCO

CUTTING AND ANATOMY OF VASSOURÃO-BRANCO

Aurea Portes FERRIANI¹
Juliana Lischka Sampaio MAYER¹
Katia Christina ZUFFELLATO-RIBAS²
Cleusa BONA²
Henrique Soares KOEHLER³
Cícero DESCHAMPS³
Antonio Aparecido CARPANEZZI⁴
Marisa de Cacia OLIVEIRA⁵

RESUMO

Piptocarpha angustifolia Dusén (Asteraceae) é uma espécie arbórea nativa brasileira pertencente à Floresta Ombrófila Mista, com potencial ambiental para recuperação de ecossistemas e produção madeireira. A propagação seminal desta espécie apresenta dificuldades devido a irregularidade na produção e coleta, aliadas a baixa germinação pela formação de poucas sementes viáveis. Este trabalho teve como objetivo verificar o enraizamento de estacas semilenhosas de brotações do ano de plantas matrizes adultas, coletadas na primavera de 2004, verão, outono e inverno de 2005, no município de Colombo, Paraná, Brasil, tratadas com soluções alcoólicas do regulador vegetal ácido indolbutírico (AIB). Análises anatômicas e bioquímicas de açúcares totais e proteínas foram realizadas para investigação de possíveis impedimentos à iniciação radicial. Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 repetições de 20 estacas por parcela, avaliando-se as porcentagens de estacas enraizadas, com calos, vivas e mortas. Não houve enraizamento em qualquer dos tratamentos nas épocas estudadas. A presença de fibras não foi relacionada ao impedimento da iniciação radicial. Os testes microquímicos não foram conclusivos quanto à presença de compostos fenólicos. Os teores de açúcares totais e proteínas não foram correlacionados ao enraizamento adventício.

Palavras-chave: *Piptocarpha angustifolia* Dusén; espécie nativa; propagação vegetativa.

ABSTRACT

Piptocarpha angustifolia Dusén (Asteraceae) is a Brazilian native woody species belonging to Mixed Rain Forest (Araucaria's Forest) with potential use for environmental restoration and economical in plantation for woody production. Its propagation by seeds presents difficulties by irregular production and collection and low germination by poor number of feasible seeds. This work aims to verify the rooting response for semihardwood cuttings of annual shoots from mature plants, collected in spring 2004, summer, autumn and winter 2005 in Colombo, Paraná state, Brazil and submitted a different treatments by alcoholic solution with use of plant growth regulator indolebutyric acid (IBA). Anatomical and biochemical analysis of total carbohydrates and proteins were made to investigate possible obstacle to roots initiation. The statistical analyses were made by completely randomized design with four treatments of twenty cuttings, evaluating rooting percentage, callus cuttings, alive and dead cuttings. No adventitious rooting response was verified in all seasons studied. The presence of fibers was not related as anatomical barrier to rooting. The microchemical tests weren't conclusive to presence phenolic compounds and total carbohydrates and proteins weren't correlated to rooting.

Key-words: *Piptocarpha angustifolia* Dusén; Brazilian native species; plant propagation.

¹ Bióloga, Mestre em Agronomia-ProduçãoVegetal/UFPR, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba/PR, apferriani@ig.com.br

² Bióloga, Profª. Drª. Depto. de Botânica/UFPR, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba/PR, kazu@ufpr.br

³ Prof. Dr., Depto. de Fitotecnia e Fitossanitarismo/UFPR, Rua dos Funcionários 1540, Juvevê, CEP 80035-050 Curitiba/PR, koehler@ufpr.br, cicero@ufpr.br

⁴ Eng. Florestal, Pesquisador Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo/PR, carpa@cnpf.embrapa.br

⁵ Eng. Agrônoma, Drª. em Botânica, Rua dos Funcionários 1540, Juvevê, CEP 80035-050 Curitiba/PR, marisaolive@ufpr.br

INTRODUÇÃO

Piptocarpha angustifolia Dusén (Asteraceae), também denominada vassourão-branco, é uma espécie florestal nativa pioneira, pertencente à Floresta Ombrófila Mista. Estudos silviculturais apontam sua utilização em recuperação de ecossistemas pelo desenvolvimento satisfatório em solos alterados e crescimento rápido, ou em plantios dirigidos para produção de aglomerados e caixotaria (SEITZ, 1976; INOUE et al., 1984; CARVALHO, 2003). No entanto, a produção de sementes é irregular e de difícil coleta (< 3 mm), com baixa porcentagem de embriões viáveis (CARVALHO, 2003; FERRIANI et al., 2005).

A crescente demanda de mudas de espécies florestais faz com que técnicas para otimização desse processo sejam cada vez mais estudadas. A estaquia é um método amplamente difundido para muitas espécies lenhosas como o eucalipto e para a maioria das frutíferas comerciais (DUARTE et al., 1992; LEONEL e RODRIGUES, 1993; ROCHA, 2002), permitindo a produção de indivíduos de maneira seletiva e rápida, principalmente quando a espécie não apresenta sementes em quantidade ou qualidade desejadas (PAIVA e GOMES, 1993; ROCHA, 2002).

O princípio da propagação vegetativa por estaquia consiste em destacar parte da planta matriz (estaca), com a finalidade de formar uma planta nova e completa, pela indução do enraizamento adventício (FACHINELLO et al., 1995; HARTMANN et al., 2002), devido à presença de certos níveis de substâncias de crescimento natural na planta, como açúcares, proteínas e outros co-fatores que, como as auxinas, contribuem para a o desenvolvimento radicial (PAIVA e GOMES, 1993; ONO e RODRIGUES, 1996; ZUFFELLATO-RIBAS e RODRIGUES, 2001). Porém, diante da dificuldade de enraizamento que envolve fatores relacionados à própria planta ou a condições ambientais (BIASI, 1996) o uso de reguladores vegetais é aconselhável. O ácido indolbutírico (AIB) é um regulador vegetal amplamente utilizado para diversas espécies, por estimular a indução, número e qualidade das raízes adventícias, promovendo uniformidade no enraizamento (HARTMANN et al., 2002).

Este trabalho teve como objetivos verificar o enraizamento de *Piptocarpha angustifolia* pela estaquia semilenhosa em brotações do ano de plantas matrizes adultas, coletadas nas quatro estações do ano, utilizando diferentes concentrações de ácido indolbutírico. Paralelamente foram realizadas análises anatômicas e bioquímicas das estacas com a finalidade de verificar possíveis impedimentos à iniciação radicial do material vegetativo utilizado.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de coleta

Foram selecionados dez plantas matrizes adultas com diâmetro à altura do peito (DAP) variando entre 20 e 40 cm. As coletas ocorreram nos bairros Monte Castelo, Roseira e Imbuial,

localizados no município de Colombo (25° 19' 18,48139"S e 49° 09' 32,87741"W), estado do Paraná, Brasil. A classificação do clima, pelo Sistema Internacional de Köppen é do tipo Cfb, subtropical úmido, sem estação seca (1410 mm de chuva por ano) e com temperatura média anual de 16,5 °C e inverno rigoroso.

Material botânico e estaquia

A exsicata do material botânico utilizado encontra-se depositada no herbário da Embrapa Florestas, registrada sob número HFC 7090. As coletas foram realizadas no último mês de cada estação do ano: primavera de 2004, verão, outono e inverno de 2005.

As saídas a campo para coleta foram realizadas nas primeiras horas da manhã, onde foram coletadas brotações da copa, desprezando-se as porções terminais herbáceas, para confecção de estacas caulinares semilenhosas. As estacas foram preparadas com comprimento de 12 cm e diâmetro entre 0,5 e 1,0 cm, mantendo-se dois a três entrenós; corte em bisel na base e corte reto na porção superior, onde foram mantidas duas folhas com área reduzida à metade e colocadas em baldes com água. Para a desinfestação, as estacas foram tratadas com hipoclorito de sódio P.A. a 0,5% por 10 min, lavagem posterior em água corrente por 5 min e imersão das bases em fungicida Benomyl (0,25 g L⁻¹) durante 15 min. Em seguida, cerca de 1,5 cm das bases das estacas foram mergulhadas em solução alcoólica (50% v/v) de ácido indolbutírico (AIB) por 10 segundos de imersão conforme os seguintes tratamentos: 0 mg L⁻¹ AIB, 500 mg L⁻¹ AIB, 1000 mg L⁻¹ AIB, 1500 mg L⁻¹ AIB e 3000 mg L⁻¹ AIB.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com 53 cm³, contendo vermiculita de granulometria média como substrato, em casa-de-vegetação climatizada com sistema automático de nebulização intermitente (>80% UR – umidade relativa) do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, Estado do Paraná. Após 70 dias da instalação foram analisadas as seguintes variáveis: porcentagem de estacas enraizadas, porcentagem de estacas com calos (sem raízes e com calos), porcentagem de estacas vivas (sem raízes e sem calos) e porcentagem de estacas mortas. O delineamento foi inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos com quatro repetições de 20 estacas por parcela, totalizando 400 estacas em cada época. Os resultados foram submetidos à análise de variância (teste F). As variáveis cujas médias revelaram diferenças significativas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Análises anatômicas

Para a análise anatômica qualitativa foram coletadas amostras das bases de duas estacas no momento de instalação do experimento nas quatro estações. A fixação das amostras foi feita em FAA 70 durante 24 h e depois conservadas em álcool a 70%.

Para a preparação das lâminas permanentes, os materiais foram incluídos em historresina (GMA-glicol metacrilato), segundo a técnica de FEDER e O'BRIEN (1968).

Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação. Os cortes foram obtidos com 7 μ m de espessura e corados com azul de toluidina (FEDER e O'BRIEN, 1968). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permalte^a). Lâminas semi-permanentes também foram montadas para realizar testes microquímicos, com lugol para detecção da presença de amido, vermelho de rutênio para detecção de pectinas e cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940).

Análises bioquímicas de açúcares totais e proteínas

Para análises referentes às concentrações de açúcares totais e de proteínas nas quatro épocas foram utilizadas como padrão estacas utilizadas nos experimentos de estaquia, com duas ou três repetições por análise. Cada estaca foi totalmente triturada e macerada com 10 mL de álcool a 80° e a extração dos açúcares feita em banho-maria (70-80 °C) durante 10 min. Após este período, realizou-se a filtração com o resíduo submetido a mais duas extrações idênticas. O filtrado final foi evaporado a 50 °C e o extrato re-suspenso em 3 mL de água destilada, sendo mantido em congelador.

As amostras foram posteriormente utilizadas para análise de açúcares totais pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando glicose como padrão, com leitura em espectrofotômetro com absorvância de 490 nm.

Os mesmos procedimentos de maceração, extração e filtração foram utilizados para a determinação de proteínas, sendo utilizado o método de BRADFORD (1976), com padrão albumina bovina (BSA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estaquia

Não houve enraizamento adventício em qualquer dos tratamentos nas quatro estações analisadas. No verão e inverno de 2005 houve mortalidade total das estacas em todos os tratamentos (Tabela 1); estes resultados podem estar relacionados ao alto grau de lignificação do material utilizado, concordando com a informação de que o grau de maturação, para muitas espécies, afeta negativamente sua capacidade de propagação (ZOBEL e TALBERT, 1984, BIASI, 1996; HARTMANN et al., 2002). O impedimento da indução radicial desta espécie pode também ser atribuído à ação dos reagentes utilizados no tratamento fitossanitário e preparação da solução do regulador vegetal, contribuindo para o alto índice de mortalidade.

TABELA 1 – Porcentagens de estacas de *P. angustifolia* com calos, vivas e mortas coletadas na primavera de 2004, verão, outono e inverno de 2005.

CONCENTRAÇÕES (mg L ⁻¹ AIB)	-----PRIMAVERA-----			-----VERÃO-----			-----OUTONO-----			-----INVERNO-----		
	C	V	M	C	V	M	C	V	M	C	V	M
0	17,5A	0	82,5 B	0	0	100,0	0	18,6 A	80,1 A	0	0	100,0
500	2,5 B	0	97,5 A	0	0	100,0	0	23,8 A	74,9 A	0	0	100,0
1000	0,0 B	0	100,0 A	0	0	100,0	0	10,6 A	89,4 A	0	0	100,0
1500	1,3 B	0	98,7 A	0	0	100,0	0	14,6 A	85,4 A	0	0	100,0
3000	1,3 B	0	98,7 A	0	0	100,0	0	8,0 A	92,0 A	0	0	100,0
QM	214,37	-	7314,37	-	-	-	-	158,80	193,09	-	-	-
CV (%)	62,72	-	3,48	-	-	-	-	61,53	10,95	-	-	-

C = estacas com calos, V = estacas vivas, M = estacas mortas. Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao substrato utilizado, é possível que a vermiculita tenha sido um substrato inadequado às necessidades da espécie, embora reúna características desejáveis, como uniformidade na composição, baixa densidade, capacidade de retenção de água, porosidade para manter a aeração, ser livre de patógenos e viabilidade econômica (WENDLING et al., 2002). Em estaquia de araçazeiro NACHTIGAL et al. (1994)

obtiveram resultados superiores a 40% de enraizamento utilizando mistura cinza de casca de arroz e vermiculita na proporção 1:1.

Houve formação de calos nas estacas (Tabela 1) somente na primavera, com a maior porcentagem (17,5%) obtida no tratamento sem uso do regulador vegetal; nos tratamentos subsequentes verificou-se que a adição do ácido indolbutírico interferiu no aumento da mortalidade das estacas,

sugerindo efeito fitotóxico para a espécie, conforme citado por ONO e RODRIGUES (1996). Possivelmente um período maior de permanência no leito de enraizamento poderia ter favorecido a emergência de primórdios nas estacas com formação de calos na referida estação.

A variável sobrevivência das estacas foi verificada no outono, sem diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos; as outras estações apresentaram valores nulos para esta variável devido a formação de calos (primavera) ou mortalidade total das estacas (verão e inverno). Numericamente, as maiores porcentagens foram obtidas nos tratamentos testemunha e 500 mg L⁻¹ AIB, sendo que muitas estacas permaneceram vivas e com folhas sem formar calos, somente com o desenvolvimento de brotações novas, indicando o provável consumo de reservas a serem utilizadas durante o processo de enraizamento, também observado por ADAMS e ROBERTS (1987) em cultivares do gênero *Rhododendron*.

No verão, as estacas apresentaram 100% de mortalidade, com a perda precoce de folhas e intensa desidratação, mesmo sob regime de nebulização intermitente. Provavelmente fatores relacionados à temperatura e ao período de florescimento podem estar relacionados a estes

resultados, semelhantes aos descritos por LEONEL e RODRIGUES (1993) na estaquia de licheira (*Litchi chinensis* Sonn.), onde destacaram que, mesmo sob regime de nebulização, não houve reposição suficiente da perda de água ocorrida pela transpiração.

No inverno, houve mortalidade geral das estacas sendo observada a queda maciça de folhas que antecedeu a necrose das bases das estacas, sugerindo que a manutenção das folhas pode contribuir como aparato fotossintético necessário à iniciação radicial (WIESMANN e LAVEE, 1995; ZUFFELLATO-RIBAS e RODRIGUES, 2001; HARTMANN et al., 2002).

Análises anatômicas

As observações realizadas em secções transversais de estacas de *P. angustifolia* provenientes de brotações do ano de plantas matrizes adultas revelaram epiderme com células alongadas no sentido anticlinal e tricomas tectores ramificados pluricelulares. A região cortical é composta externamente por três a quatro camadas de células colenquimáticas e internamente por três a cinco camadas de células parenquimáticas (Figura 1). Fibras dispersas são observadas em toda a extensão cortical.

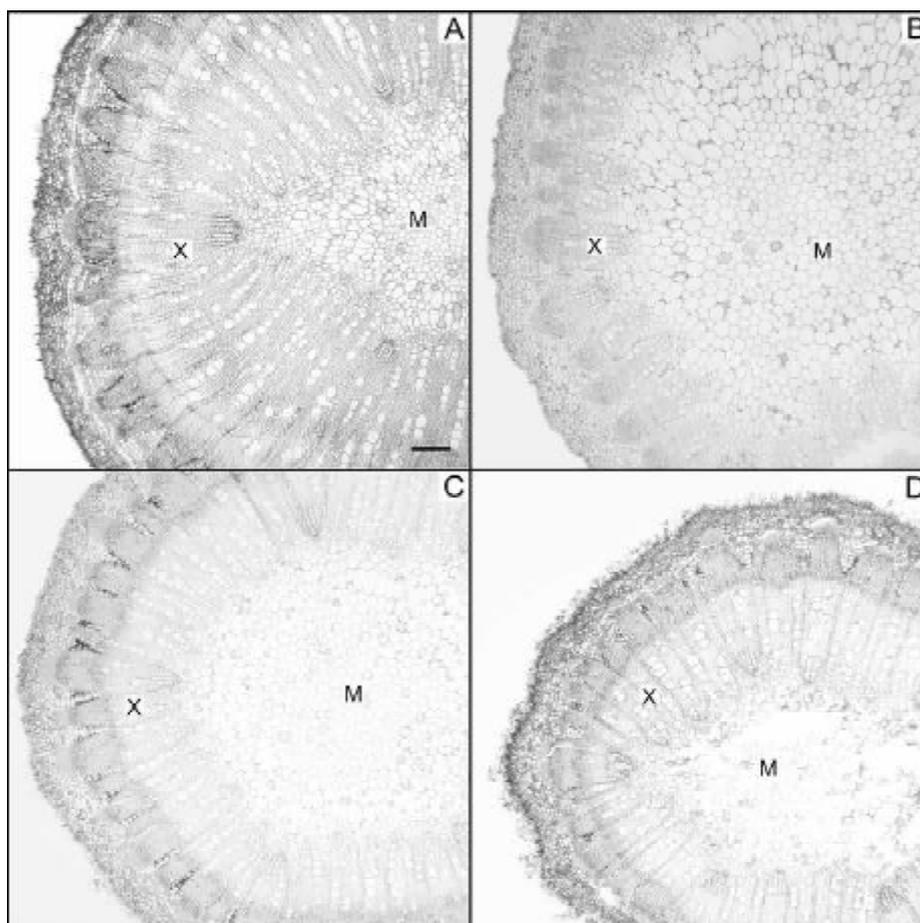


FIGURA 1 - A-D. Vista geral das secções transversais da base das estacas semilenhosas de *P. angustifolia*: Primavera/2004 (A); Verão/2005 (B); Outono/2005 (C); Inverno/2005 (D). Visualizar a medula (M) e o xilema (X). Barra = 200 μ m.

Todas as estacas analisadas apresentaram crescimento secundário (Figura 2 A-D). O cilindro vascular mantém as calotas de fibras do floema primário e no floema secundário as camadas com células parenquimáticas e elementos de tubo crivado são intercaladas por camadas de fibras. O floema secundário é seguido pelo câmbio, xilema secundário, xilema primário e medula parenquimática. A região do xilema secundário

apresenta elementos de vaso isolados ou agrupados. MAYER et al. (2006) verificaram que a baixa capacidade de enraizamento de *V. rotundifolia* cv. Topsail pode estar relacionada às características anatômicas do cultivar, como a disposição das fibras no floema secundário e a permanência das fibras do floema primário, coincidindo com o que foi observado em *P. angustifolia*.

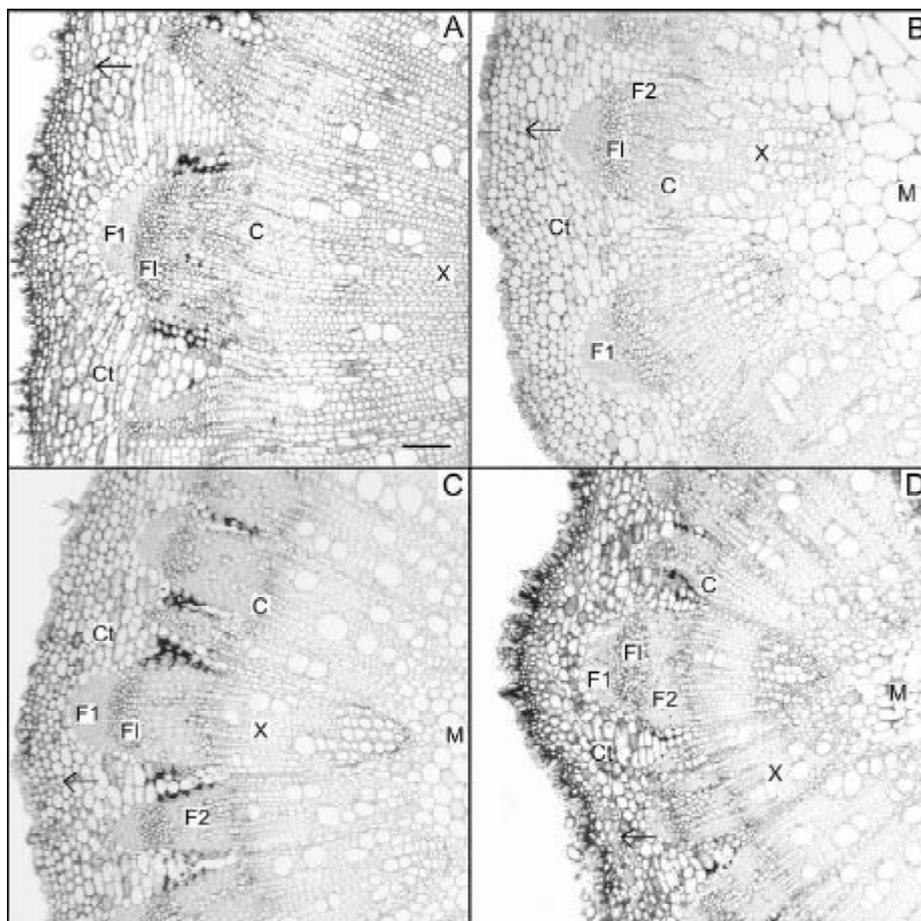


FIGURA 2 - A-D. Detalhes das secções transversais da base das estacas semilenhosas de *P. angustifolia*. Primavera/2004 (A); Verão/2005 (B); Outono/2005 (C); Inverno/2005 (D). Visualizar a medula (M); o xilema (X); o câmbio (C); as fibras do floema secundário (F2); as fibras do floema primário (F1); o floema secundário (F1); o córtex (Ct) e o colênquima (Seta). Barra = 100 μ m.

BEAKBANE (1961) observou a influência da estrutura anatômica do floema primário sobre a capacidade de formação de raízes em estacas de frutíferas demonstrando que plantas de difícil enraizamento freqüentemente apresentam alto grau de esclerificação. Segundo ONO e RODRIGUES (1996) o grau de continuidade da camada esclerenquimática é inversamente proporcional à capacidade de enraizamento das estacas. WHITE e LOVELL (1984) verificaram em estacas de plantas adultas de *Griselinia littoralis* e *G. lucida*, a formação de um anel contínuo de fibras e esclereídes no floema primário do caule impedindo a emissão dos primórdios radiciais. Em *P. angustifolia* observou-

se que a camada de fibras apresenta uma descontinuidade, indicando a possibilidade desta não constituir uma barreira mecânica ao enraizamento.

O câmbio apresentou mais atividade nas estações outono, inverno e primavera, coincidindo com os períodos de maior acúmulo de açúcares totais nas estacas (Figuras 1 A-C-D e 4). IRITANI et al. (1986) observaram em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) que o aumento da atividade cambial induzido pelas auxinas favoreceu a formação de calos e a iniciação radicial. Segundo ANGYALOSSY-ALFONSO e MARCATI (2004) o câmbio pode sofrer dormência durante períodos de

estresse, onde a disponibilidade hídrica nos trópicos induz a sazonalidade cambial. Nestes períodos, a divisão celular cessa, resultando em uma região cambial mais estreita em relação aos períodos favoráveis ao crescimento.

Os testes microquímicos com o reagente lugol revelaram a presença de amido na região da endoderme durante as estações do outono, inverno e primavera, concentrando-se nas camadas de células mais internas do córtex. Para o enraizamento de oliveira (*Olea europaea* L.) WIESMAN e LAVEE (1995) apontaram o amido como maior fonte de carboidratos requeridos ao processo de indução radicial, uma vez que a taxa de fotossíntese permanece reduzida nas estacas. No verão não foi verificada deposição de amido, possivelmente devido ao consumo relacionado ao período de floração e frutificação (ONO e RODRIGUES, 1996).

Os testes microquímicos com cloreto férrico não evidenciaram conclusivamente a presença de compostos fenólicos específicos pela alteração de coloração devido à preexistência de uma substância de coloração intercelular escura. Cogitou-se que o corte do caule e a imersão das bases das estacas em soluções de hipoclorito de sódio e Benomyl podem ter causado a oxidação dos tecidos e conseqüente liberação de compostos fenólicos. Testes específicos seriam necessários para identificar a composição química dessa substância

a fim de esclarecer a influência desse composto sobre o enraizamento, pois a presença de compostos classificados genericamente como mono e polifenóis pode interferir no processo de indução radicial por atuarem, respectivamente, como inibidores e ativadores do sistema IAA-oxidase (ONO e RODRIGUES, 1996). Os testes microquímicos com vermelho de rutênio não evidenciaram a presença de pectinas nas estacas de nenhuma estação.

O corte realizado em uma estaca com formação de calos em *P. angustifolia* apresentou a formação de primórdio radicial na região cambial (Figura 3), coincidindo com as observações de MCMAHON et al. (2002) para a formação de raízes em estacas de plantas perenes lenhosas e BOEGER et al. (2004) no enraizamento de guaco (*Mikania glomerata Sprengel*). Observou-se a formação da massa celular indiferenciada onde ocorreu a iniciação em região correspondente ao câmbio interfascicular, deslocando as estruturas adjacentes para a periferia no momento da emergência, com possível evidência da formação da conexão vascular, em região similar à verificada por ST. HILAIRE et al. (1996) em estacas de *Mussaenda erytrophylla* L. Schum & Thonn. Nos cortes analisados foi observado que os elementos de vaso apresentaram lume obstruído por mucilagem (Figura 3 D).

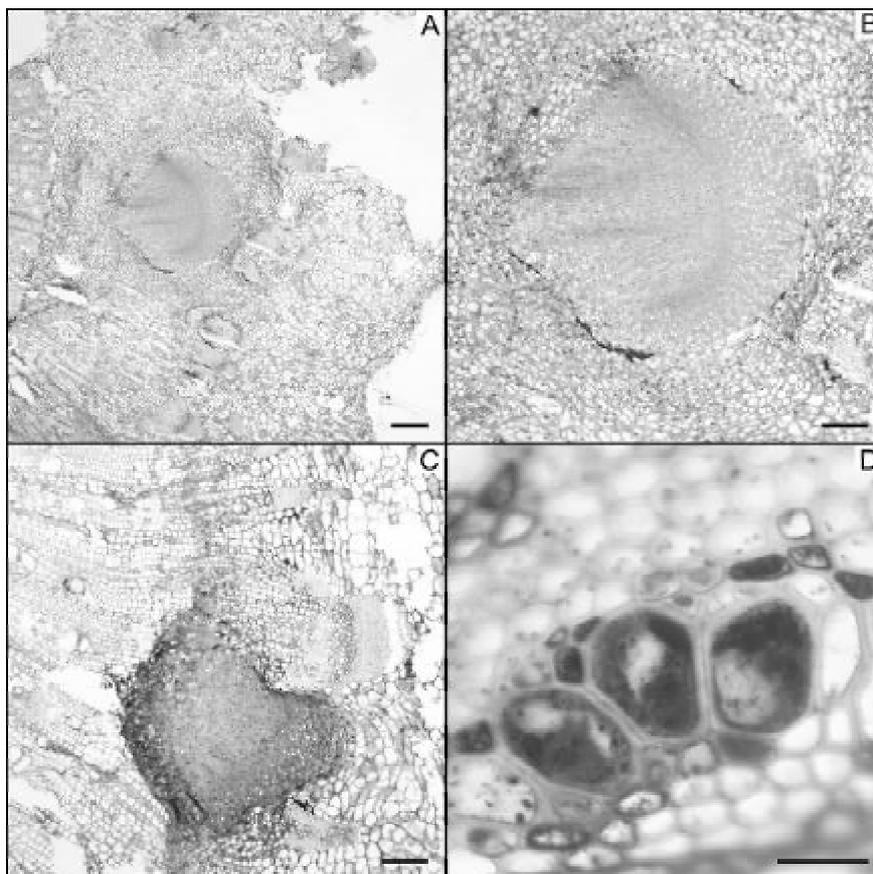


FIGURA 3 - A-C. Primórdio radicial em secção transversal da base de estaca semilenhosa de *P.angustifolia* (inverno/2005). Barra = 200 μ m (A); Barra =100 μ m (B); Barra = 100 μ m (C). D. Elemento de vaso obliterado por mucilagem. Barra = 25 μ m (D).

Análises bioquímicas de açúcares totais e proteínas

As maiores concentrações de açúcares totais (Figura 4) foram obtidas no outono e inverno, sendo relacionados por ZANETE (1995) e ONO e RODRIGUES (1996) com o período de repouso vegetativo das espécies, no qual as reservas se

acumulam nos tecidos para o posterior período de florescimento e frutificação. As reservas de amido e a fotossíntese constituem a fonte de carboidratos nos tecidos das estacas (HARTMANN et al., 2002), sendo mobilizados durante o processo de enraizamento (ONO e RODRIGUES, 1996; ZUFFELLATO-RIBAS e RODRIGUES, 2001).

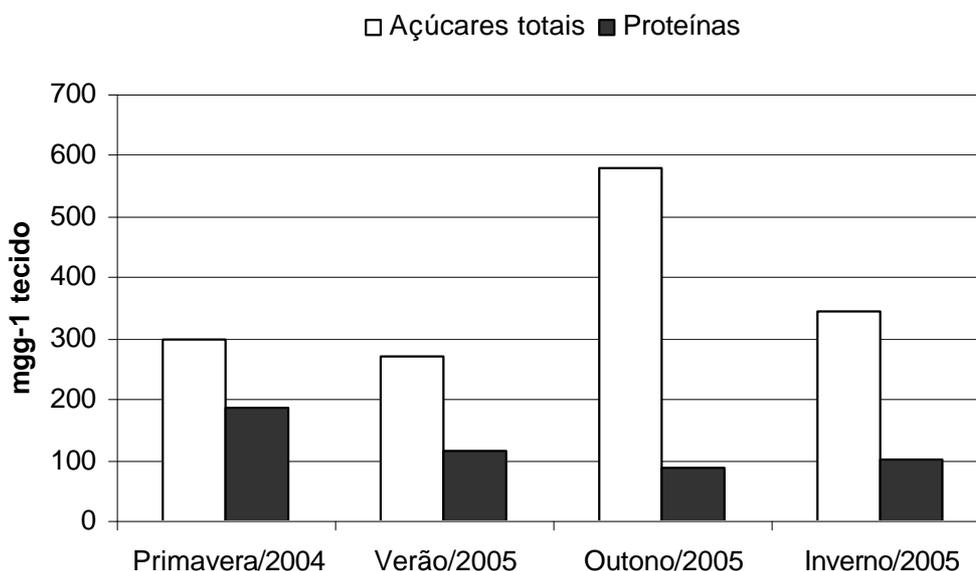


FIGURA 4 – Teores de açúcares totais e proteínas em estacas de *P. angustifolia* provenientes de plantas matrizes adultas na primavera de 2004, verão, outono e inverno de 2005.

Com relação à variação dos teores de proteínas (Figura 4), serão necessárias análises qualitativas que possam elucidar de que forma enzimas específicas atuam sobre o enraizamento das estacas. O aumento da concentração de várias enzimas logo após o período de confecção das estacas, dentre elas a peroxidase, tem sido utilizado como marcador da fase de indução ao enraizamento (HARTMANN et al., 2002).

CONCLUSÕES

A estaquia semilenhosa de brotações do ano de plantas adultas de *Piptocarpha angustifolia* não se mostrou viável, mesmo com a aplicação de ácido indolbutírico;

A presença de fibras parece não constituir barreira anatômica à indução radicial;

São necessários estudos complementares quanto à concentração do regulador vegetal, substratos e análises bioquímicas específicas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Universidade Federal do Paraná, da Embrapa Florestas e dos colaboradores Paulino Graaf, Carlos Amílcar de Carvalho Silva, Vero Oscar Cardoso dos Santos, Leonides de Jesus Tanner e Wilson Maschio pelo imprescindível auxílio durante a condução dos experimentos.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, D.B.; ROBERTS, A.N. A morphological time scale for predicting rooting potential in Rhododendron cuttings. *American Society for Horticultural Science*, v. 91, p. 753-76, 1987.
- ANGYALLOSSI-ALFONSO, V.; MARCATI, C.R. Câmbio vascular. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. *Anatomia vegetal*. Viçosa: UFV, 2004. p. 205-212.
- BEAKBANE, A.B. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. *Nature*, v. 192, p. 954-955, 1961.
- BIASI, L.A. Emprego do estiolamento na propagação de plantas. *Ciência Rural*, v. 26, n. 2, p. 309-315, 1996.
- BOEGER, M.R.T.; ALQUINI, Y.; NEGRELLE, R.R.B. Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases de desenvolvimento de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel – Asteraceae) e formação de raízes adventícias. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2004.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CARVALHO, P.E.R. *Espécies arbóreas brasileiras*. Brasília: Embrapa Informação Técnica, 2003. 1039 p.

8. DUARTE, O.R.; FACHINELLO, J.C.; SANTOS FILHO, B.G. Multiplicação da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg.) através de estacas semilenhosas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 513-516, 1992.
9. DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of carbohydrates and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-56, 1956.
10. FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1995. 179 p.
11. FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.
12. FERRIANI, A.P.; BORTOLINI, M.F.; NOGUEIRA, A.C. **Comportamento germinativo de sementes de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) sob diferentes temperaturas e substratos**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, Foz do Iguaçu, 2005. Informativo ABRATES, v. 15, n. 1/2/3, 2005.
13. HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JÚNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant Propagation: principles and practices**. 7. ed. New York: Englewood Clipp, 2002. 880 p.
14. INOUE, M.T.; RODERJAN, C.V.; KUNIYOSHI, Y.S. **Projeto madeira do Paraná**. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 1984. 260 p.
15. IRITANI, C.; SOARES, R.V.; GOMES, A.V. Aspectos morfológicos da aplicação de reguladores do crescimento nas estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire. **Acta Biologica Paranaense**, v. 15, n. 1-4, p. 21-46, 1986.
16. JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw-Hill, 1940. 523 p.
17. LEONEL, S.; RODRIGUES, J.D. Efeitos da aplicação de reguladores vegetais e do ácido bórico em estacas de lichieira (*Litchi chinensis* SONN.). **Scientia Agricola**, v. 50, n. 1, p. 33-39, 1993.
18. MAYER, J.L.S.; BIASI, L.A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasílica**, v. 20, n. 3, p. 563-568, 2006.
19. McMAHON, M.I.; KOFRANEK, A.M.; RUBATZKY, V.E. **Hartmann's plant science: growth, development and utilization of cultivated plants**. 3. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 573 p.
20. NACHTIGAL, J.C.; HOFFMANN, A.; KLUGE, R.A.; FACHINELLO, J.C.; MAZZINI, A.R.A. Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) com o uso do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 16, n. 1, p. 229-235, 1994.
21. ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: UNESP, 1996. 83 p.
22. PAIVA, H.N.; GOMES, J.M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1993. 40 p.
23. ROCHA, M.G.B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Belo Horizonte: Instituto Estadual de Florestas, 2002. 171 p.
24. St. HILAIRE, R.; BERTWART, C.A.F.; PEREZ-MUÑOZ, C.A. Adventitious root formation and development in cuttings of *Mussaenda erythrophylla* L. Schum & Thonn. **Hortscience**, v. 31, n. 6, p. 1023-1025, 1996.
25. SEITZ, R. **Algumas características ecológicas e silviculturais do vassourão-branco**. Curitiba, 1976. 114 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná.
26. WENDLING, I.; GATTO, A.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. 1 ed. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 2002. 165 p. (Coleção Jardinagem e Paisagismo. Série Produção de Mudas Ornamentais, 02).
27. WHITE, J.; LOVELL, P.H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. **Annals of Botany**, v. 54, p. 7-20, 1984.
28. WIESMAN, Z.; LAVEE, S. Relationship of carbohydrate sources and indole-3butyric acid in olive cuttings. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p.811-816, 1995.
29. ZANETE, F. **Propagação da pereira *Pirus comunis* var. Garber por estaquia lenhosa**. Curitiba, 1995. 59 f. Tese (Concurso de professor titular de Fitotecnia e Fitossanitarismo) - Setor Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
30. ZOBEL, B.; TALBERT J. Vegetative propagation. In: **Applied forest tree improvement**. North Carolina State University, 1984. 505 p.
31. ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RODRIGUES, J.D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [K. C. Zuffellato-Ribas]. 2001. 39 p.

Recebido em 22/10/2007

Aceito em 12/02/2008